Aus der Medizinischen Klinik der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. Walter Frey

Inulintest am Kaninchen

Methodik einer differenzierenden Nierenfunktionsprüfung

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Würde eines Doctor medicinae
der
Universität Bern

vorgelegt von

Frank Julius Bellac
von
La Chaux-de-Fonds, Neuchâtel

Auf Antrag des Herrn Prof. Dr. Walter Frey von der medizinischen Fakultät zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 8. Dezember 1943.

Der Dekan der medizinischen Fakultät:
Prof. Dr. Eduard Glanzmann.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	5
Methodik	
Diurese	7
Technik der Wasserinfusion	8
Technik der Blutentnahme und Injektion	9
Das Katheterisieren	12
Die chemisch-kolorimetrische Analyse	13
Die Versuchsanordnung	13
Versuchsergebnisse	15
Diskussion	21
Zusammenfassung	22
Literatur	24

Einleitung

Das Polysaccharid Inulin hat im Laufe der letzten Jahre in der Erforschung der Nierenfunktion grosse Bedeutung erlangt. Schon vor seiner Verwendung in diesem Gebiet der Physiologie war bekannt, dass das Inulin, das vor allem in den Knollen der Dahlien vorkommt, vom menschlichen und tierischen Organismus nicht abgebaut werden kann und vollständig unverändert im Harn erscheint. Da es backfähig ist und stärkeähnlichen Charakter aufweist, wurde und wird auch heute das Inulin zur Herstellung von Diabetikergebäck verwendet.

Von besonderem Interesse ist die Tatsache, dass dieses Polysaccharid ausschliesslich von den Glomeruli der Niere ausgeschieden wird. Dies wurde von verschiedenen Autoren festgestellt und bestätigt (7). Es ist demnach möglich, die Funktion der Glomeruli auf Grund von Belastungsversuchen mit Inulin zu untersuchen. Experimente dieser Art wurden von verschiedener Seite unternommen. (Siehe Literaturangaben.) Die Versuche wurden am Menschen, an Kaninchen, an Hunden und an Fröschen ausgeführt, wobei sich die Autoren verschiedener Methoden zur quantitativen Messung des Inulins im Blut und im Harn zwecks Berechnung der „Clearance" bedienten.

Während die bisher entwickelten Methoden des Inulin-Tierversuchs mit grossen Inulin- und Wassermengen (zur Erzeugung einer genügend grossen Diurese) arbeiteten, soll in dieser Arbeit ein Verfahren dargestellt werden, das geeignet ist, mit kleinen Inulin- und Wassermengen auch die Nierenfunktion kranker Tiere zu prüfen. Besonders soll die neue Methode zur Erforschung der nach Masugi an Nephritis erkrankten Kaninchen geeignet sein.

Grundsätzlich besteht folgender Versuchsplan: Die Diurese der Kaninchen wird durch entsprechende Fütterung und Wasserzufuhr über die normalen Verhältnisse hinaus gesteigert. Die Versuchstiere erhalten zu einem bestimmten Zeitpunkt Inulin intravenös. In mehr oder weniger regelmässigen Zeitabständen werden daraufhin Blut- und Urinproben gewonnen und deren Inulingehalt gemessen. Aus der Beziehung zwischen Blutinulingehalt einerseits und Urininulingehalt und Urinmenge in der Zeit (= Diurese) andererseits lässt sich die Clearance berechnen, die Aufschluss über die Funktion der Glomeruli gibt. Um diese Aufgabe zu lösen, sind folgende Fragen abzuklären gewesen:

1. Wie kann am Kaninchen eine für die Harnanalyse nötige Diurese erzeugt werden?

2. Wie wird dem Versuchstier mehrmals im Laufe von mehreren Stunden Blut in kleinen Mengen entzogen zwecks Analyse des Plasmainulingehaltes?

3. Wie sind die zeitlichen Versuchsverhältnisse einzurichten, damit später mit Sicherheit Blut- und Harnproben von einem konstanten Mittelwert erhalten werden? Alving und Miller (10) haben in einer Arbeit festgestellt, dass der Inulinspiegel im Blut beim Menschen innerhalb einer längeren Beobachtungsperiode — als logarithmische Kurve aufgetragen — einen linear abfallenden Verlauf nimmt. Bei konstanten Versuchsbedingungen ist man auf Grund dieser Gesetzmässigkeit in der Lage, den Verlauf des Inulinspiegels anhand von zwei Inulinwerten zu übersehen und die Clearance zu berechnen. Es muss also untersucht werden, ob beim Kaninchen eine analoge Gesetzmässigkeit besteht.

4. Wie kann eine bestehende, exakte Analysenmethode für Inulin für die Versuche am Kaninchen adaptiert werden?

Methodik

1. Die Diurese.

Die normalerweise vom Kaninchen ausgeschiedenen Harnmengen sind für die Untersuchungen der Nierenfunktion unzureichend. Man muss die Diurese durch künstliche Zufuhr von Wasser steigern. Es ergab sich als zweckmässig, die Versuchstiere vor der Inulinprobe etwa eine Woche lang regelmässig zu ernähren, wobei wir eine Fütterung mit Karotten und Körnerfutter am Morgen gaben. Dazu erhielten die Tiere Wasser ad libitum. Am Vortag des Versuches wurde die Fütterung mittags unterbrochen, so dass die Kaninchen in Anlehnung an die Anordnung von Kaplan und Smith (4) 18 Stunden nur Wasser bekamen, dieses ad libitum. Die eigentliche Wasserbelastung geschah nun in der Weise, dass dem Versuchstier mittels Schlundsonde zweimal 40 ccm 20 grädiges Wasser pro Kilogramm Körpergewicht verabreicht wurde, und zwar in einem Zeitabstand von einer halben Stunde. Kaplan und Smith geben in ihrer Arbeit (4) an, dass eine dritte Wasserinfusion vorgenommen werden kann, doch fand ich, dass ein grosser Teil der so behandelten Tiere mehrere Tage unter dieser hohen Wasserzufuhr litt (Fressunlust, Apathie). Andererseits genügt die durch zwei Infusionen erzeugte Diurese für die empfindliche Inulinbestimmungsmethode, derer ich mich bediente. Allerdings ergaben mehrere Vorversuche, die die Diureseverhältnisse abzuklären hatten, dass man mit Vorteil nur Tiere von mehr als 2,5 kg Körpergewicht für die Untersuchung verwenden soll, da bei kleineren Tieren die Urinausscheidung entsprechend der geringeren zugeführten Wassermenge klein und nicht konstant ist. Bei den für unsere Inulinversuche verwendeten Kaninchen,

die zwischen 2,5 und 4,1 kg wogen, stellte sich die erste spontane Urinentleerung nach 1 bis 1½ Stunden ein, was ich bei der Anordnung der Inulinausscheidungsversuche berücksichtigt habe.

2. Technik der Wasserinfusion.

Zur Infusion sind folgende Hilfsmittel zweckmässig: 1 Glastrichter von zirka 8—10 cm Durchmesser, ein Stück Gummischlauch zum Anstecken an den Trichter, ein Quetschhahn, 1 einseitig konisch ausgezogenes Glasrohr von etwa 6 cm Länge, das als Zwischenstück von Schlauch und einem Seidenkatheter dient. Ich verwendete einen Katheter von etwa 5 mm Dicke. Weiters benötigt man eine Kiefersperre, die man aus einem zirka 25 cm langen Stück Holz (am besten Hartholz) schnitzen kann. Man spitzt das eine Ende so zu, dass man ohne Kraftanstrengung und ohne das Kaninchen zu verletzen, diesem das Holz von der Seite zwischen die Kiefer einzuführen vermag. In etwa 10 cm Entfernung vom spitzen Ende des Holzes wird ein für den Katheter leicht durchgängiges Loch gebohrt. Die Kiefersperre soll eine Dicke von ca. 2 cm haben.

Vor jeder Infusion wird der Seidenkatheter in heisses Wasser gelegt, um weich zu werden. Man stellt nun die einzelnen Teile der Infusionsvorrichtung zusammen: der Trichter wird mit dem Gummischlauch verbunden, über diesen die Schlauchklemme geschoben, das Glasrohr mit dem stumpfen Ende an den Schlauch angesetzt und schliesslich der erweichte Katheter an das freie konische Ende des Glasstückes gesteckt. Das ganze System wird bis zum oberen Ende des Trichterrohres mit Wasser gefüllt. Der Katheter wird mit Paraffinöl gleitend gemacht.

Eine Hilfsperson wickelt das Kaninchen in ein Tuch so ein, dass nur dessen Kopf frei bleibt. Es gelingt erst nach einiger Uebung, die Kaninchen durch das Einwickeln so unbeweglich zu machen, dass die Hilfsperson im Sitzen das Tier und die Kiefersperre festhalten kann. Das Kaninchen wird dabei zweckmässig zwischen die Knie genommen, mit der einen Hand hält man die umwickelten Vorderpfoten, mit der anderen den

Kopf. Eine zweite Person führt jetzt vorsichtig die Kiefersperre von der Seite zwischen die Kiefer ein und dreht das Holz so, dass die Zungenspitze des Versuchstieres zwischen Holz und die unteren Schneidezähne zu liegen kommt. Das Holz wird so lange gedreht, bis das Loch in der Kiefersperre das Einführen des Katheters gestattet. Ist man so weit, wird der Katheter entlang der Rachenhinterwand vorsichtig in den Oesophagus eingeführt. Das Tier macht dabei Schluckbewegungen und atmet deutlich hörbar durch die Nase. Besonders dies weist darauf hin, dass der Katheter im Oesophagus und nicht in der Trachea ist. Nur ein einzigesmal verlor ich ein Versuchstier, das Wasser aspiriert hatte. Es war dies ganz am Anfang meiner Versuche, wo ich noch nach Kaplan und Smith drei Infusionen vornahm, bei einer dritten Infusion.

Nun wird der Trichter mit der vorbereiteten, auf 20^0 C erwärmten Wassermenge (40 ccm pro kg Körpergewicht, siehe oben) gefüllt und diese in den Magen laufen gelassen. Man lässt das Wasser bis an das obere Ende des Trichterrohrs ablaufen und schliesst den Quetschhahn. Jetzt wird der Katheter langsam herausgezogen und die Kiefersperre entfernt. Nach der Infusion kommt das Tier in einen Käfig, in dem es keine Nahrung findet.

3. Technik der Blutentnahme und Injektion.

Zur Blutentnahme und Injektion kommt das Kaninchen in ein längliches, enges Kistchen, das so eingerichtet ist, dass der Kopf des Tieres an einem Ende aus einer engen Oeffnung heraussieht. Diese Kistchen sind für verschiedene Versuche in der Physiologie bekannt.

Für die Blutentnahme haben sich nur kurzgeschliffene, kurze Nadeln Nr. 2 gut geeignet. Langgeschliffene Nadeln werden durch den Sog der Spritze von der Venenwand verlegt. Es empfiehlt sich, eine weich gehende 5 oder 6 ccm-Recordspritze zur Blutentziehung zu verwenden. Vor der Blutentnahme wird die Spritze mit physiologischer Kochsalzlösung gespült, um ein sicheres und leichtes Gleiten des Kolbens im Zylinder zu sichern. Auf die der Kanüle gegenüberliegende Fläche stäubt man

etwas Liquoid La Roche, um die sonst sehr rasch eintretende Gerinnung des aspirierten Blutes in der Spritze zu verhindern. Die vorherige Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung ermöglicht ein gutes Haften der kleinen Kriställchen und setzt die Hämolyse durch eventuell von der Sterilisation zurückgebliebenes Wasser auf ein Mindestmass herunter.

Ich habe alle Blutentnahmen und Injektionen an der Ohrrandvene ausgeführt. Zu diesem Zweck wird vorerst der Ohrrand mit Xylol gut abgerieben und die Haare über der nun deutlich hervortretenden Vene ausgezupft. Die Einreibung wird vor jeder Blutentnahme ausgeführt, da sie eine sehr starke Füllung der Vene bewirkt. Eine Hilfsperson hält Kiste und Kopf des Kaninchens. Der Einstich in die Vene wird sehr erleichtert, wenn die Hilfsperson das Ohr durch Zug spannt. Zur Blutentnahme wird von proximal nach distal gestochen, bei der Injektion umgekehrt. Unter langsamem Zug werden 2,5 bis 3,0 ccm Blut entnommen und sofort in paraffinierte enge Zentrifugierröhrchen übertragen. Ich habe auch in diese bei allen Versuchen etwas Liquoid La Roche gestäubt, um die Blutgerinnung zu verhindern.

Zur Injektion verwendete ich 2,5 ccm frisch bereitete Inulinlösung (2 g Inulinum purissimum Siegfried + 20 ccm Ringer- oder physiologische Kochsalzlösung in einem 50 ccm-Erlenmeyerkolben 15 Minuten im kochenden Wasserbad gelöst und sterilisiert). Dazu mischte ich 2,5 ccm Liquemin La Roche (= ½ Ampulle), da bei der oftmaligen Blutentnahme die Gerinnung des Blutes so gesteigert erschien, dass ich die grössten Schwierigkeiten hatte, eine dritte und weitere Blutentnahme zu machen. Immer gerann das Blut sofort nach dem Einstich in die Vene schon in der Kanüle. Durch die Einspritzung von Liquemin (= Heparin) gelang es mir, die Gerinnung etwa drei Stunden lang zu verhindern. Später ist die gerinnungshemmende Wirkung des Liquemins schon so stark abgeklungen, dass — wenn nötig — eine weitere Einspritzung von 2,5 ccm Liquemin erforderlich ist. Es hat keinen Sinn, von Anfang an mehr als 2,5 ccm Liquemin zu spritzen, da dadurch die Wirkungsdauer nach eigenen und anderen Beobachtungen nicht verlängert werden kann. Offenbar wird das Heparin bei höhe-

rer Dosierung rascher ausgeschieden oder inaktiviert (11). Die Behandlung mit Heparin hat leider die Gefahr, dass infolge der künstlichen hämorrhagischen Diathese Blutungen auftreten, die unter Umständen das Tier schädigen, ja töten können. In der oben zitierten Arbeit von Reinert und Winterstein (11) wird über den Verlust eines Versuchstiers nach Verabreichung von 36 000 gerinnungshemmenden Einheiten berichtet. Bei der Sektion fand sich ein grosses retroperitoneales Hämatom. Bei einem meiner Versuchstiere trat eine Lähmung der hinteren Extremitäten und der Harnblase nach der Einspritzung ein. Bei diesem und bei einem zweiten Tier, das nach einem Versuch zu anderen Zwecken getötet und seziert wurde, zeigten sich grosse retroperitoneale Hämatome im Bereich beider Nieren. Das letztere hatte keinerlei Störungen von Seiten der Blutung gezeigt. Es ist daher wohl angezeigt, wenn nicht mehr als zwei Blutproben gebraucht werden, auf eine Einspritzung von Heparin beziehungsweise Liquemin zu verzichten.

Um den verschiedenen Schwierigkeiten zu begegnen, die im Festhalten der Tiere während der Blutentnahme, der Injektion und dem Katheterisieren gelegen sind, stellte ich eine Reihe von Versuchen an, bei denen ich den Tieren mit dem Inulin — entsprechend der Anweisung der Fabrik — Narconumal La Roche intravenös injizierte. Dabei zeigte sich nun als angenehme Nebenerscheinung, dass die Blutgerinnung offenbar wesentlich verzögert war, auch wenn kein Heparin verabreicht wurde. Es gelang meist ohne Schwierigkeit, selbst sechs Blutennahmen vorzunehmen, und zwar sogar bis zu 7 ccm pro Mal. Da die bei diesen Versuchen erzielten Inulinwerte denen von nicht narkotisierten Tieren entsprachen, sehe ich in der Anwendung dieses Narkotikums einen wesentlichen Vorteil für die Ausführung des Inulinversuchs, wenn auch die Versuchsbedingungen weniger physiologisch sind.

Um möglichst genaue Blutwerte zu bekommen, habe ich die Leerprobe (Po) und die darauffolgende Injektion an einem, die weiteren Blutproben am anderen Ohr ausgeführt. Das entnommene Blut wird sofort in den oben beschriebenen Gläsern zentrifugiert und gleich anschliessend von dem über den gesunkenen Blutkörperchen stehenden Plasma 1 ccm mit einer 1-ccm-Pipette

abgehoben, in einen 20 ccm fassenden Erlenmeyerkolben übertragen und in den Kühlschrank gestellt. Es ist selbstverständlich, dass man für jede Plasmaprobe eine neue, absolut reine Pipette verwendet. Wegen der ziemlich grossen Viscosität des Plasmas hat es sich als günstig erwiesen, alle Proben aus der Pipette auszublasen, nicht ausfliessen zu lassen. Man tut auch gut daran, die Pipetten (wie auch die für den chemischen Teil der Untersuchung) mit Heftpflasterringen zu versehen und anzuschreiben, damit jede Pipette bei allen Versuchen für die gleiche Probe und nur einmal verwendet wird.

Es braucht nicht betont zu werden, dass man für die Injektion und für die Blutentnahmen verschiedene Spritzen verwendet. Die für die Blutentnahme gebrauchte Spritze wird jeweils nach der Blutentnahme mit Wasser gut gewaschen und vor der nächsten Verwendung mit physiologischer Salzlösung gespült (siehe oben). Die gebrauchten Kanülen werden sofort in physiologische Salzlösung gelegt, da sie sich darin sehr gut rein halten lassen. Man spült sie dann kräftig mit Wasser durch und sterilisiert sie durch Auskochen.

4. Das Katheterisieren.

Zum Katheterisieren verwendete ich Nelatonkatheter von 7 bis 8 Charrière. Das Kaninchen wird auf einem Spannbrett, wie es in der Physiologie Anwendung findet, in Rückenlage befestigt. Es ist von Vorteil, ein für allemal eine Marke 10 cm hinter der Katheterspitze anzubringen. Durch leichtes Schaben mit einem Messer oder vorsichtiges Berühren mit einem glühenden Draht lässt sich dies ohne Schaden für den Katheter ausführen. Kürzeres oder weiteres Einführen des Katheters ist nicht günstig. Der Urin tritt spontan nur tropfenweise aus. Durch leichte Massage oberhalb der Symphyse gelingt es aber in wenigen Minuten, den gesamten Urin aus der Harnblase zu entleeren. Doch muss sehr vorsichtig und sachte massiert werden, besonders bei heparinisierten Tieren, da sonst Blutungen auftreten können. Die von Kaplan und Smith empfohlene Füllung der Blase mit Luft zwecks besserer Urinentleerung hat sich in meinen Versuchen nicht bewährt.

Der Urin wird in reine Erlenmeyerkolben von 50 oder 100 ccm Fassungsvermögen gesammelt, mit einem sauberen Gazestöpsel verschlossen und in den Kühlschrank gestellt, wo er bis zur Analyse verbleibt.

5. Die chemisch-kolorimetrische Analyse.

Als genaueste und einfachste Methode zur Bestimmung von Inulin in Blut und Urin wurde die von Alving und Miller (11) an der Medizinischen Klinik in Bern von Sanz modifiziert. Ich konnte die modifizierte Methode unverändert anwenden. Um den Versuchstieren möglichst wenig Blut entziehen zu müssen, versuchte ich, mit 1 ccm Plasma — statt wie Sanz mit 2 ccm Plasma — auszukommen. Bei sorgfältiger Arbeit gelingt dieses Vorgehen. Man entzieht dem Kaninchen 2,5 ccm Blut und gewinnt daraus 1 ccm Plasma. Entsprechend dem halben Plasmaquantum sind die übrigen Reagenzmengen zu halbieren. Der weitere Untersuchungsprozess wird genau nach den Angaben von Sanz ausgeführt (12).

6. Die Versuchsanordnung.

Im folgenden sei kurz an Hand eines Versuchsprotokolls das Vorgehen eines Inulinausscheidungsversuchs dargestellt.

Versuch 2N vom 26. 12. 41.

Männliches Kaninchen, Gewicht 4120 g.

Zeit	
1200	Infusion von 160 g Wasser
1230	Infusion von 160 g Wasser
1400	Blutentnahme Po (Leerwert)
1405	Injektion von 3,3 ccm Inulinlösung + 4 ccm Narconumal Roche
1415	Blutentnahme P_1
1435	Blutentnahme P_2
1505	Urinprobe 0 (wird nicht verwertet)
1507	Blutentnahme P_3
1537	Blutentnahme P_4

1605 Urinprobe U_1
1627 Blutentnahme P_5
1705 Urinprobe U_2

Die kolorimetrisch-chemische Analyse der Blut- beziehungsweise Plasmaproben sowie die der Urinproben wurden, wie oben erwähnt, nach dem Vorgehen von Sanz ausgeführt; ebenso wurde die Clearance (= Glomerulusfiltrat pro Minute) in der in der Arbeit von Sanz beschriebenen Art berechnet.

Versuchsergebnisse

A. Erzeugung einer Diurese.

Die für die Versuche erforderliche Diurese kann durch zweimalige Zufuhr von je 40 ccm Wasser pro Kilogramm Körpergewicht in einem Zeitabstand von einer halben Stunde erzielt werden. Eine grössere Wasserzufuhr scheint die Kaninchen doch in einer Weise zu schädigen, dass sie längere Zeit zur Erholung benötigen und daher für folgende Versuche, wie sie für die Erforschung von pathologischen Nierenveränderungen erforderlich sind, nicht mehr herangezogen werden können. Die Diurese setzt bei der von uns ausgeführten Wasserbelastung etwa eine Stunde nach der letzten Wasserzufuhr kräftig ein. Tabelle 1 gibt eine Zusammenstellung einiger Versuche, die die Verhältnisse bei der durch Wasserbelastung gesteigerten Diurese klarzulegen hatten. Dabei wurde bei Tier 1—8 dreimalige Wasserbelastung alle 30 Minuten, bei Tier 9—12 nur zweimalige Belastung mit 40 ccm 20° warmem Wasser je Kilogramm ausgeführt.

B. Der Abfall des Blutplasma-Inulinspiegels.

Der Blutplasma-Inulinspiegel entspricht in seinem Verlauf weitgehend dem beim Menschen. Nach einem raschen Abfall der logarithmischen Werte während der ersten Stunde nach der Inulininjektion sinken die Inulinwerte in gerader Linie. Das anfänglich rasche Sinken der Inulinwerte im Plasma ergibt sich durch den Ausgleich des Inulingehaltes von Blut und Lymphe und durch die renale Ausscheidung, die während dieser Zeit mit voller Stärke einsetzt. (Ueber die zeitlichen Verhältnisse Wasserinfusion—Inulininjektion siehe Kapitel „Versuchsanordnung“.)

Tabelle 1

Spontandiurese bei Kaninchen nach Wasserbelastung mit der Magensonde

Tier	Zugeführte Menge, ccm	Verlauf der Spontandiurese beim Kaninchen in Minuten																Total ccm
		20	40	60	80	100	20	40	60	80	200	20	40	60	80	300	20	40	
1	300			5					60										65
2	240							40				45		15					100
3	310							95	35										130
4	305									60									60
5	325					95			30										125
6	305					75	15			50									140
7	360					200													200
8	270	15	35	30		15							45					35	145
9	220							55	30				60						145
10	180					15				8		5	3						31
11	280			45				65	30	18		24							82
12	230				55			15		22		41		25					156

Tabelle 2

Abfall des Plasmainulinspiegels bei fünf narkotisierten Kaninchen

Min. nach d. Injekt.	mg % Inulin im Plasma bei Versuch Nr.				
	1	2	3	4	5
0	258,10				
10		20,25			
20			150,10	19,51	12,55
30	37,25	12,30			
40			11,78	12,03	
50					8,09
60	15,60	7,05			
70			9,62		
80				7,27	8,53
90	13,40	6.88			
100			5,53		
110					7,39
120	4.66				
130					7,83
140		4,74	4,83		
150				6,49	
160					7,26
170					
180					
190			3,96		

Der Verlauf des Inulinspiegels von fünf Versuchen mit narkotisierten Kaninchen ist aus Tabelle 2 ersichtlich. In Fig. 1 sind die gleichen Versuche graphisch dargestellt, und zwar in logarithmischem Masstab.

Während der zweiten Stunde nach erfolgter Inulininjektion verlaufen die Kurven annähernd gerade, so dass während dieser Zeit die Clearancewerte mittels zweier Blut- und einer zeitlich ungefähr in der Mitte liegenden Urinprobe berechnet werden kann. Diese Tatsache ist für weitere Versuche von ausschlaggebender Bedeutung, denn dadurch ist man imstande, die Blutproben ohne Narkose oder Heparinisierung der Kaninchen zu gewinnen und somit weitgehend physiologische Verhältnisse zu schaffen.

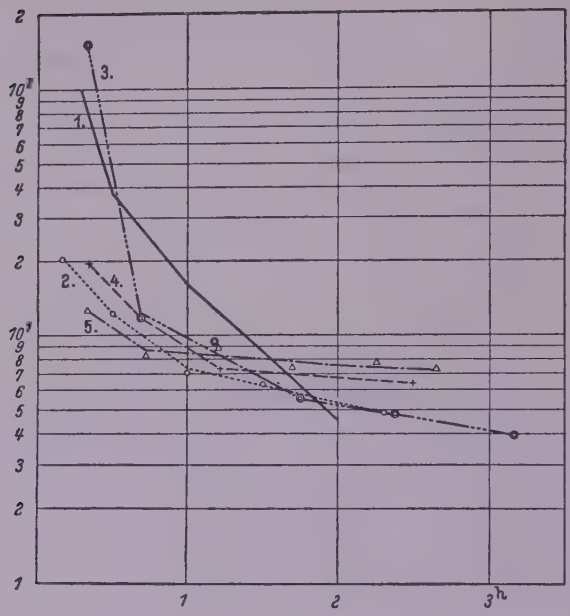

Fig. 1

C. Die Bestimmung des Glomerulusfiltrates und der tubulären Rückresorption.

Ueber die bei den gleichen fünf Versuchen erzielten Clearancewerte, sowie über die verschiedenen Analyseresultate, wie sie zur Berechnung der Clearance erforderlich sind, gibt folgende Tabelle 3 Auskunft. Zur Orientierung sei noch bemerkt, dass man unter Clearance die Menge Blutplasma versteht, die in einer Minute von den Nieren beziehungsweise von den Glomeruli filtriert wird. Die Berechnung der Clearance geschieht nach der Formel:

$$Cl. = \frac{Uk.}{Pk.} . Mu.$$

wobei Cl. = Clearance, Uk. = Urin-Inulinkonzentration, Pk. = Plasma-Inulinkonzentration in mg%, Mu. = Urinausscheidung in ccm pro Minute bedeutet.

Aus Tabelle 3 ist nun zu sehen, dass sowohl die Werte für die Clearance als auch die prozentuale Rückresorption $\frac{Cl. \ 100}{Cl. - Mu.}$

innerhalb recht weiter Grenzen schwanken. So bewegen sich die Clearancewerte bei einem Mittel von 7,5 ccm zwischen 3,4 bis 16,0 ccm, während die Wasserrückresorption bei einem Mittelwert von 93,9 % sich zwischen 84,7 und 96,9 % aufhält.

Tabelle 3

Das Glomerulusfiltrat (Clearance und die tubuläre Wasserrückresoption bei narkotisierten Kaninchen

Versuch	Plasma-inulin mg %	Urin-inulin mg %	Faktor	Min. Urin ccm	Clearance ccm	Rückresorption %
1	15,06	147,7	9,80	0,43	4,15	89,6
2	5,52	42,1	7,62	0,83	6,32	86,9
3	6,9	163,0	23,6	0,68	16,0	95,8
4	4,5	52,2	11,6	0,65	7,5	91,4
5	6,35	386,0	60,86	0,11	6,7	96,9
6	7,06	168,3	23,83	0,38	9,1	95,8
7	7,66	108,3	14,15	0,48	6,8	93,8
8	7,28	46,8	6,45	0,52	3,4	84,7
		Durchschnittswerte		0,46	7,5	93,9

Es erscheint interessant, obige — unter Narkosebedingungen — erzielte Resultate mit Werten zu vergleichen, die bei nicht narkotisierten Tieren gefunden wurden. Fünf derartige Versuche sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4

Das Glomerulusfiltrat (Clearance) und die tubuläre Wasserrückresorption bei nicht narkotisierten Kaninchen

Versuch	Plasma-inulin mg %	Urin-inulin mg %	Faktor	Min. Urin ccm	Clearance ccm	Rückresorption %
1	1,78	390,5	216,0	0,25	54,0	99,6
2	3,3	358,0	108,5	0,28	30,8	98,4
3	2,77	155,5	56,1	0,26	14,8	98,3
4	2,38	228,5	94,0	0,27	25,6	98,9
5	5,44	237,0	43,6	0,36	15,7	97,8
		Durchschnittswerte		0.29	28,2	98,6

Auffallend sind die hier durchwegs höheren Glomerulusfiltratmengen und grössere Wasserrückresorption. Die Minutenurinmenge bei diesen nicht narkotisierten Tieren weist eine erstaunlich geringe Schwankungsbreite auf. Trotzdem sind die Clearancewerte recht verschieden, sehen wir doch Zahlen zwischen 14,8 und 54,0. Dabei schwanken die Resultate für die Wasserrückresorption nur in sehr engen Grenzen.

Welchen Einfluss die Narkose auf die Nierenfunktion ausübt, ist schwer zu entscheiden. Es mag vielleicht unter ihrer Einwirkung zu einer verminderten Durchblutung der Niere überhaupt oder zu vermindertem Filtrationsdruck in den Glomeruli kommen. Die Schwankungen der Clearancewerte beim narkotisierten wie beim nicht narkotisierten Tier werden unter anderem wohl am ehesten an Blutdruckänderungen während des Versuches denken lassen. Sie entsprechen im übrigen durchaus den Verhältnissen beim Menschen (12).

Diskussion

Bei kritischer Betrachtung der Versuchsverhältnisse kann man sagen, dass die Wasserbelastung eines Kaninchens nicht physiologisch ist. Wie schon bemerkt, ist eine gewisse Wasserbelastung für die Ausführung des Inulintestes unerlässlich. Dank der verfeinerten Analysenmethode gelingt es nunmehr mit einer relativ geringen Wassermenge auszukommen. Schliesslich darf nicht vergessen werden, dass eine Wasserbelastung, wie sie beim Volhardschen Verdünnungsversuch am Menschen ausgeführt wird, auch mit Wassermengen operiert, die nicht mehr ohne weiteres als physiologisch aufgefasst werden können.

Bei der Verwertung der bei unseren Versuchen gefundenen Ergebnisse setzten wir diese nur mit denen beim Menschen in Beziehung, da analoge Versuche am kranken Kaninchen gemacht werden sollen, deren Ziel es ist, die Funktion der Glomeruli in den verschiedenen Phasen des Krankheitsgeschehens aufzuklären. Die bei diesen weiteren Versuchen gezeitigten Resultate sollen mit den menschlichen Verhältnissen verglichen werden.

Vergleiche zwischen Kaninchennierenfunktion und Funktion der menschlichen Niere sind weitgehend möglich. Stimmen doch Anatomie und Histologie beider Nierenarten, soweit man dies heute übersehen kann, miteinander überein (13).

Zusammenfassung

Vorstehende Arbeit beschreibt eine Methode, die es gestattet, unter möglichster Schonung der Versuchstiere und unter Wahrung möglichst physiologischer Verhältnisse die Glomerulusfunktion der Kaninchenniere an Hand der Inulinausscheidung zu prüfen. Zweck dieser Inulin-Ausscheidungsversuche ist der, die Glomerulusfunktion unter physiologischen und pathologischen Bedingungen mit den Verhältnissen beim gesunden und kranken Menschen vergleichen zu können.

Durch den Nachweis, dass sich unter physiologischen Bedingungen der Abfall des Inulinspiegels im Blutplasma beim Kaninchen mit dem beim Menschen deckt, sind die Voraussetzungen für die Verwendungsmöglichkeit der Methode in der oben gewünschten Richtung gegeben. Von Wichtigkeit ist dabei, dass der Abfall des Inulinspiegels bei der von uns angegebenen Versuchsanordnung beginnend eine Stunde nach der Inulininjektion in logarithmischen Werten gemessen einen linearen Verlauf nimmt. Demnach ist man in der Lage, mittels zweier Blutproben, die während dieser Zeitperiode gewonnen werden, in jedem beliebigen Zeitpunkt den Inulinspiegel des Plasmas zu bestimmen. Da das Inulin durch die Tubuli weder rückresorbiert noch sezerniert wird, erscheint es infolge der starken Wasserrückresorption in erhöhter Konzentration im Urin. Urinkonzentration dividiert durch Plasmakonzentration ergibt den sogenannten Eindickungsfaktor. Multipliziert man denselben mit der Minutenurinmenge der betreffenden Urinsammelperiode, so erhält man die Inulinclearance, d. h. die Menge von Plasma in ccm, die pro Minute in den Glomeruli von ihrem Inulingehalt befreit worden ist. Da nach Richards der Inulingehalt des Plasmas mit dem des Glo-

merulusfiltrats übereinstimmt, entspricht die Inulinclearance dem Glomerulusfiltrat.

Um die Inulinausscheidung messen zu können, ist man genötigt, den Kaninchen eine ziemlich grosse Wassermenge zuzuführen, da die Diurese dieser Tiere sonst zu gering ist. Dank der verfeinerten Inulinbestimmung auf colorimetrischem Weg nach Sanz (12) kommt man mit relativ wenig Wasser aus, wodurch der Inulintest gegenüber früheren Versuchen (4) unter physiologischeren Bedingungen ausgeführt werden kann. So werden den Versuchstieren pro Kilogramm Körpergewicht zweimal 40 ccm Wasser zugeführt, was die Kaninchen anstandslos vertragen.

Die Werte für das Glomerulusfiltrat schwanken bei den oben besprochenen fünf Versuchen, die temporär unter Zuhilfenahme von Narconumal-Narkose ausgeführt wurden, zwischen 3,4 und 16,0 ccm, bei einem Mittelwert von 7,5 ccm. Die verschiedenen Resultate innerhalb dieses Bereichs erklären sich aus der differenten Grösse der Versuchstiere und beim einzelnen Tier aus weiteren Faktoren (Blutdruck usw.), die in der Dissertation von Sanz (12) besprochen worden sind.

Bei nicht narkotisierten Tieren wird durchwegs eine höhere Glomerulusfiltratmenge sowie eine grössere Wasserrückresorption gefunden. Die Minutenurinmengen sowie die Werte für die Wasserrückresorption zeigen bei diesen Versuchen nur sehr geringe Schwankungen, während die Clearancewerte ähnlich den Versuchen mit narkotisierten Tieren stark variieren.

Der Einfluss der Narkose auf die Nierenfunktion wird wohl in verminderter Nierendurchblutung oder geringerem Filtrationsdruck seine Erklärung finden.

Literatur

1. Shannon: Americ. Journ. Physiol. 112/405 (1935).
2. Corcoran and Page: Journ. Biol. Chem. 127/601 (1939).
3. Alving, Rubin, Miller: Journ. Biol. Chem. 127/609 (1939).
4. Kaplan, Smith: Americ. Journ. Physiol. 113/354 (1935).
5. Mc Kay, Cockrill: Americ. Journ. Physiol. 94/220 (1930).
6. Richards, Westfall, Bott: Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 32/73.
7. Richards, Bott, Westfall: Americ. Journ. Physiol. 123/281 (1938).
8. Van Slyke, Hiller, Miller: Americ. Journ. Physiol. 113/611 (1935).
9. Van Slyke, Hiller, Miller: Americ. Journ. Physiol. 113/629 (1935).
10. Alving, Miller: Arch. int. Med. 66/306 (1940).
11. Reinert, Winterstein: Arch. Int. Pharm. et Thérapie Vol. LXII, Fasc. I.
12. Sanz: Dissertation Bern.
13. Jaffé: Anatomie und Pathologie der Spontanerkrankungen der kleinen Laboratoriumstiere.